

CYTOCHIMIE ULTRASTRUCTURALE DES INTERFACES PRÉSENTES DANS L'ASSOCIATION ECTOMYCORHIZIENNE *TUBER MELANOSPORUM* VITT./ *CORYLUS AVELLANA* L.

Jean-Claude PARGNEY

Laboratoire de Biologie des Ligneux, B.P. n° 239,
Université de Nancy I, 54506 Vandœuvre-les-Nancy
Cedex, France.

RÉSUMÉ - L'association ectomycorhizienne *Tuber melanosporum* *Corylus avellana* est utilisée pour caractériser cytochimiquement les structures des différentes interfaces qui s'établissent à la suite de la symbiose. Les techniques employées sont, d'une part des tests d'identification (test PATAg, complexe WGA-or colloïdal) et d'autre part, des digestions enzymatiques (pectinase, cytohélicase) et des extractions par l'EDTA, le DMSO et la MeNH₂. Entre les hyphes, l'interface est créée par l'accrolement des parois fongiques et la formation d'un ciment interhyphal; elle est modifiée lors de la mort des cellules (manteau externe). Au niveau des zones de contact entre les deux partenaires, d'autres éléments interviennent dans la constitution du ciment comme les composés pectiques issus de la lamelle moyenne des cellules racinaires. Entre les hyphes et les composés tanifères présents dans le manteau interne, des résidus pariétaux, provenant de cellules dans lesquelles se sont formés les tanins, sont incorporés au ciment.

ABSTRACT - The ectomycorrhizian association *Tuber melanosporum*/*Corylus avellana* was used in order to determine the cytochemical characters of the different interfaces created by such symbiosis. This investigation was made by identification tests (test of PATAg, WGA-gold colloidal complex), enzymatic digestions (pectinase, cytohelicase) as well as chemical extractions (EDTA, DMSO and MeNH₂). The observed interface between hypha is built by an adherence of the fungal walls followed by the formation of an interhyphal matrix and is modified by cell death (external coat). At the areas of contact between the two partners, matrix composition includes several other elements such as pectic components originating from the medial layer of root cells. Wall elements of tannic cells are incorporated into the matrix seen between the hypha and tannins present in the internal coat.

MOTS CLÉS : ectomycorhize, *Tuber melanosporum*, cytochimie.

INTRODUCTION

Tuber melanosporum établit avec *Corylus avellana* des ectomycorhizes constituées d'un manteau bien développé et d'un réseau de Hartig (Pargney & Leduc, 1987, 1990). Les hyphes externes du manteau forment un tissu

mort périphérique. Les éléments fongiques vivants (manteau interne et réseau de Hartig) s'organisent autour des cellules corticales, en un ensemble fonctionnel remarquable, impliqué dans les échanges entre la plante et le champignon.

Dans les différentes zones de la mycorhize, il s'établit entre les cellules, des interfaces diverses. Dans le manteau, l'interface est constituée des plasmalemmes et des parois fongiques séparées par un ciment; lorsque les hyphes sont mortes comme dans le manteau externe, les plasmalemmes n'existent plus (Pargney & Leduc, 1990). Au niveau des jonctions entre les deux partenaires, tous deux participent à la constitution de l'interface; les contacts s'effectuent parfois directement par juxtaposition des parois (Foster & Marks, 1966; Duddridge & Read, 1984; Kottke & Oberwinkler, 1986), mais, le plus souvent, il s'établit entre les parois un ciment, appelé selon les auteurs, couche d'enrobage (Scannerini, 1968), matrice (Scannerini & Bonfante-Fasolo, 1983) ou zone d'apposition (Strullu, 1974; Strullu & Gerault, 1977; Nylund, 1981; Duddridge, 1986a,b).

Le ciment se distingue des parois par son contraste: dans les mycorhizes à Ascomycètes, il est dense aux électrons (Scannerini, 1968; Strullu & Gerault, 1977; Strullu & Gourret, 1980; Dexheimer et al., 1985), alors qu'il apparaît clair dans les mycorhizes à Basidiomycètes (Strullu, 1976a,b; Strullu & Gerault, 1977; Scannerini & Bonfante-Fasolo, 1983). Toutefois cette propriété pourrait dépendre du stade de développement de la mycorhize et de la souche fongique concernée (Kottke & Oberwinkler, 1986). Des études cytochimiques ont permis de confirmer la nature glycoprotéique du ciment (Pargney & Leduc, 1990) et de préciser l'origine de certains constituants (Pargney, 1990); au niveau du réseau de Hartig, il ne présente pas les mêmes caractéristiques cytochimiques que l'une ou l'autre des parois adjacentes (Pargney, 1990). Les essais de caractérisation cytochimique effectués sur les structures de l'interface au niveau du réseau de Hartig dans l'association Truffe Noisetier (Pargney, 1990) peuvent être généralisés aux autres interfaces afin de comparer et d'analyser les structures impliquées dans leur formation.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATERIEL

Des plants de *Corylus avellana* sont mycorhizés selon la technique de Chevalier & Grente (1978) par *Tuber melanosporum*. Après trois mois de culture en motte Melfert, les mycorhizes matures (de couleur brun clair) sont prélevées et débitées en courts fragments (0,5 à 1 mm de longueur); seules les zones apicales et subapicales sont fixées pour la microscopie électronique.

TECHNIQUES DE CYTOCHIMIE ULTRASTRUCTURALE

Les échantillons sont fixés par le glutaraldéhyde à 2,5%, tamponné à pH 7,2 par le tampon cacodylate de sodium (à 4°C et pendant 6h). Après la-

vage, ils sont post-fixés au tétr oxyde d'osmium à 1% dans le même tampon (à la température de la glace fondante et pendant 1h). Ils sont ensuite déshydratés, inclus dans de l'épon 812, puis coupés.

- Techniques de localisations

Les polysaccharides sont mis en évidence par le test PATAg (Thiery, 1967). Les coupes ainsi traitées servent également de référence pour apprécier les résultats obtenus après les digestions enzymatiques et les extractions chimiques subies par d'autres échantillons. La chitine est localisée sur coupe par utilisation du complexe WGA-or colloïdal permettant de détecter les résidus de N-acétylglucosamine qu'elle renferme (Roberts et al., 1983).

- Techniques de digestions enzymatiques

Après fixation par le glutaraldéhyde et rinçage dans le tampon cacodylate, les fragments de mycorhizes sont lavés dans une solution de sorbitol à 2%, puis incubés dans de la pectinase (Sigma), en solution à 5% dans du sorbitol à 2% et à pH 3,5, ou dans de la cytohélicase (IBF) en solution à 5% dans du sorbitol à 2% et à pH 5,8. Les digestions enzymatiques s'effectuent à 37°C pendant 48 et 72h. Les échantillons sont ensuite soigneusement lavés, post-osmiés, déshydratés et enrobés comme précédemment. Les coupes sont contrastées par le test PATAg.

- Traitements chimiques

Les fragments de mycorhizes sont fixés au glutaraldéhyde, puis lavés dans le tampon cacodylate. Ils sont ensuite incubés dans un solvant chimique: acide éthylènediamine tétracétique (EDTA) en solution aqueuse à 1%, diméthylsulfoxyde pur (DMSO) ou méthylamine (MeNH₂) en solution aqueuse à 40% (Reis & Roland, 1974; Reis, 1981). Les traitements s'effectuent à 25°C pendant 48 et 72h. Après lavage et post-fixation, les échantillons sont déshydratés et inclus dans l'Epon. Les coupes sont soumises au test PATAg.

RÉSULTATS

L'étude ultrastructurale de la mycorhize, présentée dans d'autres publications (Pargney & Leduc, 1987, 1990; Pargney, 1990), a permis de définir trois zones: le manteau externe, le manteau interne et le réseau de Hartig (Fig. 1). Elles sont utilisées comme référence pour la présente étude.

LOCALISATIONS ULTRASTRUCTURALES

Après application du test PATAg de localisation des polysaccharides, toutes les interfaces montrent un marquage important. Dans le manteau externe (Fig. 2), la paroi fongique et le ciment interhyphal sont très contrastés et la limite entre les différentes structures est souvent difficile à définir. Dans le manteau interne (Fig. 3), la paroi fongique apparaît pluristratifiée et la couche périphérique fortement marquée permet de mieux localiser le ci-

ment; les composés tanifères sont parfaitement distincts des structures pariétales. Au niveau du réseau de Hartig (Fig. 4), le ciment, la paroi des cellules racinaires et la couche externe de la paroi fongique présentent des densités électroniques voisines et leurs limites sont difficiles à discerner; la couche interne de la paroi fongique, moins dense, est par contre de délimitation plus aisée.

L'utilisation de la WGA associée à l'or colloïdal permet le marquage de la paroi fongique quelque soit la zone considérée (Fig. 5, 6, 7). Les grains d'or, isolés ou groupés, ne présentent pas de répartition préférentielle. Ils sont plus rares dans le ciment du manteau externe (Fig. 5) et quasiment absents de celui du manteau interne (Fig. 6) et du réseau (Fig. 7). Les composés tanifères (Fig. 6) et la paroi des cellules racinaires (Fig. 7) en sont dépourvus.

DIGESTIONS ENZYMATIQUES

Après utilisation de la pectinase, les interfaces ont subi quelques modifications. On note un affaiblissement de l'intensité du test PATAg au niveau du ciment et ceci quelque soit la zone considérée (Fig. 8, 9, 10). Dans le manteau externe (Fig. 8), le ciment, moins dense, permet une meilleure appréciation des limites de la paroi fongique. Des zones d'altération sont particulièrement visibles au niveau des composés tanifères (Fig. 9) et dans le ciment du réseau de Hartig (Fig. 10). Les parois des hyphes et des cellules racinaires ne sont que faiblement modifiées même après des incubations prolongées (72h).

La cytohelicase a une action plus efficace. Dans le manteau externe (Fig. 11), le ciment et les parois fongiques sont partiellement attaqués. Au niveau du manteau interne (Fig. 12), le ciment est fortement altéré; les parois fongiques présentent une dégradation différentielle de leurs strates: la couche interne est fortement lysée alors que la couche périphérique reste bien marquée par le test PATAg. Dans le réseau (Fig. 13), les dégradations sont tout aussi remarquables: la couche interne de la paroi fongique et les parois des cellules racinaires sont très sensibles au traitement, le ciment est partiellement lysé et la couche externe de la paroi fongique demeure fortement réactive au test PATAg.

TRAITEMENTS CHIMIQUES

Le traitement par l'EDTA entraîne un éclaircissement du ciment et des parois fongiques du manteau externe (Fig. 14). Dans le manteau interne (Fig. 15), le ciment montre une plus grande sensibilité au solvant; l'attaque est particulièrement importante au voisinage des composés tanifères. Dans le réseau de Hartig (Fig. 16), on observe également un éclaircissement du ciment et des structures pariétales des deux partenaires. Dans certains cas, on assiste, après utilisation de l'EDTA, à un gonflement des interfaces (Fig. 16).

Le traitement par la MeNH₂ provoque une altération partielle du ciment du manteau externe (Fig. 17); par contre, les parois fongiques semblent peu dégradées. Au niveau du manteau interne (Fig. 18), l'attaque est plus importante: le ciment et les composés tanifères sont fortement altérés ce qui

entraîne la séparation des hyphes les unes des autres. Dans le réseau de Hartig (Fig. 19), le ciment est également dissout. Les parois fongiques sont partiellement dégradées aussi bien dans le manteau interne (Fig. 18) que dans le réseau (Fig. 19).

Le traitement par le DMSO entraîne un éclaircissement des interfaces du manteau externe (Fig. 20) et du manteau interne (Fig. 21). Les composés tanifères sont particulièrement sensibles à ce traitement: les dégradations peuvent être périphériques (Fig. 22) ou plus profondes (Fig. 23). Dans le réseau (Fig. 24), le ciment est également altéré et les parois fongiques paraissent plus attaquées que dans le manteau. Sur des coupes favorables (Fig. 23), on peut observer la présence de restes de parois entre deux masses tanifères.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Dans l'association ectomycorhizienne *Tuber melanosporum*/*Corylus avellana*, les interfaces qui s'établissent sont donc variées et dépendent, d'une part, des cellules mises en jeu et, d'autre part, de leur état physiologique. Elles sont construites sur le même modèle et sont constituées du plasmalemme et de la paroi d'une cellule, d'un ciment, de la paroi et du plasmalemme de la cellule adjacente; cependant, lorsque les cellules sont mortes, les plasmalemmes n'interviennent plus.

La couche pariétale périphérique des hyphes est largement impliquée dans la formation des interfaces: elle crée entre les cellules fongiques, une zone d'accrolement et de contact, le ciment, qui permet leur aggrégation et l'édification du manteau (Boutekrabt & Pargney, 1990). Bien que d'origine fongique, le ciment ne renferme toutefois pas de chitine. Les rares grains d'or observés dans les parois des cellules corticales et dans le ciment ne permettent pas de conclure à la présence de chitine dans ces structures. Massicotte et al. (1987) ont également noté, lors d'une étude immuno-cytochimique de l'association ectomycorhizienne *Abus crispus*/*Alpova hplophloeus*, la présence d'un marquage dans les parois des cellules voisines; celui-ci ne serait pas dû à la chitine, mais à la fraction glycoprotéique pariétale qui renferme de la N-acétylglucosamine (Harder et al., 1986).

Le ciment du manteau interne et celui du manteau externe ne présentent pas la même sensibilité aux différents traitements. A la suite de la dégénérescence des hyphes et de leur mort, le ciment est difficilement altérable. Les résultats obtenus avec la MeNH₂ sont particulièrement spectaculaires puisqu'ils montrent la dislocation des hyphes du manteau interne alors que l'altération est peu importante dans le manteau externe. Les causes de cette diversité de réponses pourraient provenir d'une variation dans la composition du ciment, mais aussi d'une différence de polymérisation. Dans le manteau interne, le ciment interhyphal présenterait une structure beaucoup moins stable que dans le manteau externe, vraisemblablement due à une différence de liaisons entre les polymères: ceux-ci sont difficilement déplaçables dans le manteau externe du fait d'une bonne cohésion, alors

qu'ils sont aisément extraits dans le manteau interne où les liaisons seraient moins nombreuses ou plus labiles. La dégénérescence puis la mort des hyphes entraînent donc une transformation profonde de l'interface aboutissant à la formation d'une structure stable et plus résistante aux solvants et aux enzymes. Diverses modifications y contribuent: modification de la structure de la paroi fongique dans laquelle les strates ne sont plus visibles, modification de celle du ciment qui devient peu sensible aux extractions et aux digestions enzymatiques, enfin, acquisition d'une plus grande homogénéité de l'interface qui se traduit par une uniformité de contraste des parois fongiques et du ciment.

Les composés tanifères sont sensibles à certaines extractions (pectinase, EDTA, DMSO et surtout MeNH₂); les dégradations peuvent être périphériques ou plus profondes. Dans certains cas (après traitement par l'EDTA notamment), le ciment qui borde ces composés tanifères montre des altérations locales, plus prononcées que celles observées entre les hyphes, et qui traduisent une hétérogénéité de composition. A ce niveau, les polymères impliqués dans la constitution du ciment apparaissent donc de nature différente de ceux situés entre les hyphes. Le traitement par l'EDTA, classiquement utilisé pour caractériser certaines zones préférentielles, comme la lamelle moyenne des cellules (Reis, 1981), agit sur les structures riches en composés pectiques (Thibault, 1980); sa spécificité, testée au niveau de la lamelle moyenne des cellules corticales de ces mycorhizes (Pargney, 1990), permet de conclure à la présence le long des composés tanifères de constituants pectiques dont l'origine est à chercher dans les structures pariétales préexistantes qui les entouraient. Les composés tanifères sont issus de cellules racinaires devenues tanifères et dont les parois sont lysées lors de la mise en place du champignon (Boutekrabi & Pargney, 1990); des éléments pariétaux peuvent ainsi s'incorporer au ciment avoisinant. La figure 24 montre notamment des restes de structures pariétales entre des composés tanifères. Le ciment qui borde ces composés présente donc deux fractions d'origine différente: l'une est fongique comme dans les autres parties du manteau; l'autre est constituée de polymères issus de la lyse pariétale des cellules tanifères et qui n'ont pu être mobilisés par le champignon. L'édification de ce type d'interface nécessite une réorganisation entre les polymères fongiques et ceux issus des cellules tanifères, qui aboutit à la formation d'une nouvelle structure.

Dans le réseau de Hartig, le ciment qui s'établit entre les deux partenaires peut avoir plusieurs origines. La fraction glycoprotéique, détectée d'une part par le test PATAg, et d'autre part, par la réaction de Gomori (Pargney, 1990), proviendrait des parois des deux organismes (Debaud et al., 1981). L'utilisation des techniques de cytochimie ultrastructurale montre que des parentés existent entre les composés pariétaux des deux partenaires et les constituants du ciment qui les unit (Pargney, 1990). Certains constituants du ciment pourraient avoir une origine fongique, comme, par exemple, les polysaccharides non extraits par la cytohélicase abondants dans la couche externe de la paroi du champignon et qui sont également présents, en quantité plus réduite, dans le ciment. Enfin, d'autres constituants ont une origine racinaire: les extractions par la pectinase et l'EDTA révèlent une fai-

ble quantité de composés pectiques qui pourraient correspondre à des résidus de la lamelle moyenne des cellules corticales, libérés lors de la mise en place du réseau de Hartig (Debaud et al., 1981; Massicotte et al., 1986; Pargney, 1990; Boutekrabi & Pargney, 1990). Ces résidus détectés ne représentent que la partie des constituants de la lamelle moyenne non mobilisés par le champignon. L'édification du ciment au niveau du réseau de Hartig est donc le résultat de la transformation locale des structures pariétales et d'une réorganisation de polymères issus des deux partenaires conduisant à la mise en place d'une nouvelle structure.

Ainsi le ciment, qu'il soit interhyphal ou situé entre les deux partenaires, apparaît comme une structure d'accrochage, moins stable que les parois adjacentes et dont l'évolution semble cependant liée à celle des cellules qu'il unit: dans le manteau, lorsque les hyphes meurent, le ciment et les parois se transforment en une structure stable, cytologiquement homogène et difficilement altérable. Dans le réseau, d'autres composés peuvent être incorporés à ce ciment lors de la mise en contact du champignon entre les cellules de la plante-hôte; ils sont issus de la lyse partielle et de la transformation de certaines assises pariétales (lamelle moyenne et, peut-être, zone externe de la paroi). Lorsque les conditions de culture provoquent une dégénérescence rapide des cellules racinaires et des hyphes, le ciment se développe peu (Boutekrabi & Pargney, 1990). Par contre, lorsque les cellules restent fonctionnelles, il devient important. Il pourrait constituer une zone de l'interface dans laquelle les métabolites, qui migrent entre les deux partenaires, pourraient momentanément s'accumuler en fonction des besoins des symbiotes.

BIBLIOGRAPHIE

- BOUTEKRABI A. et PARGNEY J.C., 1990 - Etude ultrastructurale de *Tuber melanosporum* en culture isolée et en association avec des vitroplants de *Quercus robur* et *Q. pubescens*. *Cryptogamie, Mycol.* 12: 25-45.
- CHEVALIER G. et GRENTÉ J., 1978 - Application pratique de la symbiose ectomycorhizienne: production à grande échelle de plants mycorhizés par la truffe (*Tuber melanosporum* Vitt.). *Mushroom Sci.* X: 483-505.
- DEBAUD J.C., PEPIN R. et BRUCHET R., 1981 - Ultrastructure des ectomycorhizes synthétiques à *Hebeloma alinum* et *Hebeloma marginatum* de *Dryas octopetala*. *Canad. J. Bot.* 59: 2160-2166.
- DEXHEIMER J., GERARD J., LEDUC J. P. et CHEVALIER G., 1985 - Etude ultrastructurale comparée des associations symbiotiques mycorhiziennes *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia claveryi* et *Helianthemum salicifolium*-*Terfezia leptoderma*. *Ibidem* 63: 582-591.
- DUDDRIDGE J. A. and READ D. J., 1984 - The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. I. Ectomycorrhizal development on pine in the field. *New Phytol.* 96: 565-573.
- DUDDRIDGE J. A., 1986 a - The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. III. Compatible and incompatible interactions between *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing. and 11 species of ectomycorrhizal hosts in vitro in the absence of exogenous carbonate. *Ibidem* 103: 457-464.
- DUDDRIDGE J. A., 1986 b - The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. IV. Compatible and incompatible interactions between *Suillus*

- grevillei* (Klotzsch) Sing. and a number of ectomycorrhizal hosts *in vitro* in the presence of exogenous carbohydrate. *Ibidem* 103: 465-471.
- FOSTER R.C. and MARKS G. C., 1966 - Observations on the mycorrhizas of forest trees. I. The fine structure of the mycorrhizas of *Pinus radiata* D. Don. *Austral. J. Bot.* 19: 1027-1038.
- HARDER DE, CHONG J., RHORINGER R. and KIM W.K., 1986 - Structure and cytochemistry of the walls of urediospores, germ tubes, and appressoria of *Puccinia graminis tritici*. *Canad. J. Bot.* 64: 476-485.
- KOTTKE I. and OBERWINKLER F., 1986 - Mycorrhiza of forest trees - structure and function. *Trees* 1: 1-24.
- MASSICOTTE H. B., PETERSON R. L., ACKERLEY C. A. and PICHEN Y., 1986 - Structure and ontogeny of *Alnus crispa*-*Alpova diplophloeus* ectomycorrhizae. *Canad. J. Bot.* 64: 177-192.
- MASSICOTTE H.B., ACKERLEY C.A. and PETERSON R.L., 1987 - Localization of three sugar residues in the interface of ectomycorrhiza synthesized between *Alnus crispa* and *Alpova diplophloeus* as demonstrated by lectin binding. *Ibidem* 65: 1127-1132.
- NYLUND J.E., 1981 - The formation of ectomycorrhiza in conifers: Structural and physiological studies with special reference to the mycobiont *Piloderma croceum* (Erikss. and Hjortst.). *Acta Univ. Uppsala* 615: 3-34.
- PARGNEY J.C. et LEDUC J.P., 1987 - Etude ultrastructurale de la symbiose ectomycorrhizienne entre le Noisetier (*Corylus avellana*) et la Truffe (*Tuber melanosporum*). *Biol. Cell* 60: 13a.
- PARGNEY J.C., 1990 - Essais de caractérisation cytochimique des structures de l'interface au niveau du réseau de Hartig dans l'association ectomycorrhizienne entre la Truffe (*Tuber melanosporum*) et le Noisetier (*Corylus avellana*). *Canad. J. Bot.* 68 (sous presse).
- PARGNEY J. C. et LEDUC J. P., 1990 - Etude ultrastructurale de l'association mycorrhizienne Noisetier Truffe. (*Corylus avellana* / *Tuber melanosporum*). *Bull. Soc. Bot. France. Lettres Bot.* 137: 21-34.
- REIS D. et ROLAND J.C., 1974 - Mise en évidence de l'organisation des parois des cellules végétales en croissance par extractions ménagées des polysaccharides associés à la cytochimie ultrastructurale. *J. Microscop.* 20: 271-284.
- REIS D., 1981 - Cytochimie ultrastructurale des parois en croissance par extractions ménagées. Effets comparés du diméthylsulfoxyde et de la méthylamine sur le démasquage de la texture. *Ann. Sci. Nat., Bot.* 13: 121-136.
- ROBERTS R.L., BOWERS B., SLATER M.L. and CABIB E., 1983 - Chitin synthesis and localization in cell division cycle mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *Molec. Cell. Biol.* 3: 922-930.
- SCANNERINI S., 1968 - Sull'ultrastruttura delle ectomicorrize. II. Ultrastruttura di una micorrizza di Ascomicete: *Tuber albidum* x *Pinus strobus*. *Allionia* 14: 77-95.
- SCANNERINI S. and BONFANTE-FASOLO P., 1983 - Comparative ultrastructural analysis of mycorrhizal associations. *Canad. J. Bot.* 61: 917-943.
- STRULLU D. G., 1974 - Etude ultrastructurale du réseau de Hartig d'une ectomycorhize à Ascomycètes de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D.* 278: 2139-2142.

- STRULLU D.G., 1976a - Etude des relations nutrition-développement et cytologie des mycorhizes chez le Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) et les Abiétacées. Thèse Doct. Etat, Rennes.
- STRULLU D.G., 1976b - Contribution à l'étude ultrastructurale des ectomycorhizes à Basidiomycètes de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.). *Bull. Soc. Bot. France* 123: 5-16.
- STRULLU D. G. et GERAULT A., 1977 - Etude des ectomycorhizes à Basidiomycètes et à Ascomycètes du *Betula pubescens* (Ehrh.) en microscopie électronique. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D*, 284: 2243-2244.
- STRULLU D. G. et GOURRET J. P., 1980 - Données ultrastructurales sur l'intégration cellulaire de quelques parasites ou symbiotes de plantes. II. Champignons mycorrhiziens. *Bull. Soc. Bot. France, Actual. Bot.*, 127: 97-106.
- THIERY J.P., 1967 - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscop.*, 6: 987-1017.
- THIBAUT J.F., 1980 - Les substances pectiques. In: B. Monties, *Les polymères végétaux*. Coll. Biochimie appliquée. Paris, Gauthier-Villars: 232-251.

LEGENDES DES PLANCHES

Fig. 1 - Détail d'une coupe transversale de la mycorhize montrant le manteau externe (ME), le manteau interne (MI) avec les composés tanifères (t) et le réseau de Hartig (RH) entre les cellules racinaires (C). Acétate d'uranyle-citrate de plomb. Echelle: 5 μ m.

Fig. 1 - Portion of a cross section of the mycorrhizae showing the outer sheath (ME), the inner sheath (MI) with the tannic substances (t) and the Hartig net (RH) between the root cells (C). Uranyl acetate-lead citrate staining. Scale: 5 μ m.

Fig. 2 à 4 - Test PATAg (échelle: 1 μ m). Fig. 2 - Manteau externe. Fig. 3 - Manteau interne. Fig. 4 - Réseau de Hartig. Les parois fongiques (h), celles des cellules racinaires (p) et le ciment (c) sont fortement marqués. La paroi des hyphes (h) montre une zone externe plus dense que la strate interne.

Fig. 2 to 4 - PATAg test (scale: 1 μ m). Fig. 2 - Outer sheath. Fig. 3 - Inner sheath. Fig. 4 - Hartig net. The fungal walls (h), the walls of the root cells (p) and the matrix (c) are electron dense. The fungal wall (h) shows an outer layer more electron dense than the inner layer.

Fig. 5 à 7 - Marquage par le complexe WGA-or colloïdal. Fig. 5 - Manteau externe. Echelle: 1 μ m. Fig. 6 - Manteau interne. Echelle: 1 μ m. Fig. 7 - Réseau de Hartig. Echelle: 0,5 μ m. Les résidus de N-acétylglucosamine sont localisés essentiellement dans les parois fongiques (h), mais rarement dans le ciment (c), les composés tanifères (t) et la paroi des cellules racinaires (p).

Fig. 5 to 7 - WGA-gold labelling. Fig. 5 - Outer sheath. Scale: 1 μ m. Fig. 6 - Inner sheath. Scale: 1 μ m. Fig. 7 - Hartig net. Scale: 0,5 μ m. Residues of N-acetylglucosamine are principally detected on the fungal walls (h), but rarely on the matrix (c), the tannic substances (t) or the wall of the root cells (p).

Fig. 8 à 10 - Digestion par la pectinase. Test PATAg (échelle 1 μ m). Fig. 8 - Manteau externe. Fig. 9 - Manteau interne. Fig. 10 - Réseau de Hartig. Le ciment (c) et la zone périphérique (flèches) des composés tanifères (t) sont partiellement altérés. Les parois des hyphes (h) et des cellules racinaires (p) ne sont que faiblement modifiées.

Fig. 8 to 10 - Action of pectinase. PATAg test (scale: 1 μ m). Fig. 8 - Outer sheath. Fig. 9 - Inner sheath. Fig. 10 - Hartig net. The matrix (c) and the periphery (arrows) of tannic substances (t) are partially damaged. The fungal walls (h) and the walls of the root cells (p) are slightly modified.

Fig. 11 à 13 - Digestion par la cytohélicase. Test PATAg. Fig. 11 - Manteau externe. Echelle: 1 μ m. Fig. 12 - Manteau interne. Echelle: 1 μ m. Fig. 13 - Réseau de Hartig. Echelle: 2 μ m. Les parois des hyphes (h), celles des cellules racinaires (p) et le ciment (c) sont plus ou moins attaqués.

Fig. 11 to 13 - Action of cytohelicase. PATAg test. Fig. 11 - Outer sheath. Scale: 1 μ m. Fig. 12 - Inner sheath. Scale: 1 μ m. Fig. 13 - Hartig net. Scale: 2 μ m. The fungal walls (h), the walls of the root cells (p) and the matrix (c) are more or less degraded.

Fig. 14 à 16 - Extraction par l'EDTA. Test PATAg (échelle: 1 μ m). Fig. 14 - Manteau externe. Fig. 15 - Manteau interne. Fig. 16 - Réseau de Hartig. Les parois des hyphes (h) et des cellules racinaires (p) sont peu altérées. Le ciment (c) est partiellement dégradé surtout le long des composés tanifères (t) du manteau interne (flèches) et au niveau du réseau de Hartig.

Fig. 14 to 16 - EDTA extraction. PATAg test (scale: 1 μ m). Fig. 14 - Outer sheath. Fig. 15 - Inner sheath. Fig. 16 - Hartig net. The fungal walls (h) and the walls of the root cells (p) are slightly modified. The matrix (c) is partially damaged essentially along tannic substances (t) inside the inner sheath (arrows) and in the Hartig net.

Fig. 17 à 19 - Extraction par la MeNH₂. Test PATAg (échelle: 1 μ m). Fig. 17 - Manteau externe. Fig. 18 - Manteau interne. Fig. 19 - Réseau de Hartig. Le ciment (c) et les composés tanifères (t) sont très dégradés. Les parois (h et p) sont également attaquées.

Fig. 17 to 19 - MeNH₂ extraction. PATAg test (scale: 1 μ m). Fig. 17 - Outer sheath. Fig. 18 - Inner sheath. Fig. 19 - Hartig net. The matrix (c) and the tannic substances are highly degraded. The walls (h and p) are also modified.

Fig. 20 à 24 - Extraction par le DMSO. Test PATAg (échelle: 1 μ m). Fig. 20 - Manteau externe. Fig. 21 à 23 - Manteau interne. Fig. 24 - Réseau de Hartig. Les parois (h et p) et le ciment (c) sont plus ou moins altérés. Noter la dégradation partielle des composés tanifères (t) et la présence de structures pariétales entre deux masses tanifères (Fig. 23, flèches).

Fig. 20 to 24 - DMSO extraction. PATAg test (scale: 1 μ m). Fig. 20 - Outer sheath. Fig. 21 to 23 - Inner sheath. Fig. 24 - Hartig net. The walls (h and p) and the matrix are more or less degraded. Note ■ modification of tannic substances (t) and the presence of walls between two tannic areas (Fig. 23, arrows).









